ПАРАЗИТОЛОГИЯ, IV, 5, 1970

УДК 576.895.122

ИЗМЕНЕНИЕ БЕЛКОВОГО СПЕКТРА КРОВИ VIVIPARUS CONTECTUS (MILLET, 1813) (GASTROPODA, PROSOBRANCHIA) ПРИ ИНВАЗИИ ЛИЧИНОЧНЫМИ ФОРМАМИ ТРЕМАТОД

А. П. Стадниченко

Астраханский технический институт рыбной промышленности и хозяйства

При заражении самцов *V. contectus* личинками *N. echinatoides* и самок — C. adiposa наблюдается возрастание концентрации белков, подвижных в отрицательном электрическом поле, за счет уменьшения содержания белков, подвижных в положительном электрическом поле.

Изучение взаимоотношений, имеющих место в сложной системе паразит-хозяин, имеет большой теоретический интерес. Особенности этих взаимоотношений сказываются определенным образом как на реакции организма хозяина на действие паразитов, так и на адаптации последних к условиям существования в организме хозяина.

Пресноводные брюхоногие моллюски являются облигатными промежуточными и дополнительными (вторыми промежуточными) хозяевами личиночных форм трематод. Спороцисты, редии, церкарии и метацеркарии последних вступают в тесные взаимоотношения с тканями хозяина. Работами ряда исследователей было показано, что личинки трематод в большинстве случаев локализуются в пищеварительной железе («печени») брюхоногих моллюсков, реже поселяются в их органах воспроизведения, еще реже — в прочих органах: мантии, мускулатуре ноги, головы и др., вызывая серьезные гистопатологические нарушения в тканях инвазированных органов. Известно также, что паразитирование личинок трематод вызывает у их хозяев — моллюсков — сдвиги в углеводном и жировом обмене. Что касается нарушений белкового метаболизма, то по этому вопросу имеются весьма фрагментарные сведения. Электрофоретическому исследованию белковой картины крови пресноводных брюхоногих моллюсков посвящено всего лишь две работы (Wright, Ross, 1959; Targett, 1963). Авторы их методом горизонтального электрофореза на ацетате целлюлозы (Kohn, 1957, 1958) пытались выявить различия в крови африканских видов пресноводных брюхоногих моллюсков — промежуточных хозяев — *Schistosomatidae* и тех видов, которые этой роли не играют.

Изучение изменений белкового спектра крови моллюсков, обусловленных инвазией последних личиночными формами трематод, еще не проводилось. Поэтому было необходимо установить, существуют ли различия в электрофоретической картине крови моллюсков, инвазированных личинками и свободных от инвазии. Объектами исследования были самки озерной живородки *Viviparus contectus* (Millet, 1813), зараженные Cercaria adiposa Lutta, 1934, и самцы того же вида, зараженные метацеркариями *Neoacanthoparyphium echinatoides* Odening, 1962 (=C. echinatoides Filippi, 1854). Следовательно, для названных паразитов самки озерных живородок играли роль промежуточных, а самцы — дополнительных хозяев.

Кровь для электрофоретического исследования получали по специально разработанной нами методике. Раковину озерных живородок осторожно разрезали ножницами и извлекали из нее тело животного, осушали его фильтровальной бумагой и помещали на часовое стекло. Затем на покровах висцерального мешка делали надрез в области сердца. Кровь, стекающую на часовое стекло, собирали с помощью пастеровской пипетки с хорошо оттянутым концом в стерильную пробирку. Затем производили анатомическое вскрытие моллюска для установления его пола.

Разгонка белков на фракции осуществлялась методом электрофореза на агаровом геле по методике, предложенной Илковым и Николовым (1959). Продолжительность электрофореза составляла 4.5—5 час. при напряжении в агаровом блоке 4 в/см^2, силе тока от 20 до 25 мА на пластинку, ионной силе мединал-вероналового буфера 0.05 и pH буфера 8.6.

Электрофоретический анализ белков крови осуществляли непосредственно после вскрытия животного, в редких случаях — на следующий день. В последнем случае кровь сохраняли в холодильнике при температуре, не превышающей +2°. Обрабатывались электрофореграммы микрофотометрически по методике, разработанной Сухомлиновым с сотрудниками (1962).

Чтобы исключить влияние сезонной и ограничить влияние возрастной изменчивости, исследовались животные примерно одного возраста (об этом судили по высоте раковин моллюсков), собранные в период с 18 по 25 V 1968 в одном биотопе Львовской обл. Всего было исследовано 590 экз. озерной живородки. Общие сведения об изученных моллюсках приведены в табл. 1.

Таблица 1

Общие сведения об исследованных моллюсках (в мм)

Варианты	Количество особей	Высота раковины				
		min—max	*M*	*m*	σ	*C*
Самцы, свободные от инвазии . .	170	24.00—32.00	29.20	0.85	2.69	9.21
Самцы, инвазированные личинками *N. echinatoides*	70	24.00—33.80	29.10	1.22	3.85	13.22
Самки, свободные от инвазии . .	220	34.00—44.00	37.50	0.97	3.06	8.16
Самки, инвазированные C. adiposa	130	33.10—43.00	38.45	0.98	3.10	8.32

Самки озерной живородки, подлежащие изучению, были спонтанно инвазированы взрослыми дочерними спороцистами и сформированными церкариями. Спороцисты C. adiposa овально вытянутой формы, реже мешкообразные. Они содержали по несколько церкарий, находившихся на одинаковых стадиях развития. Личинки данного вида локализовались в пищеварительной железе моллюсков.

При электрофоретическом анализе крови озерных живородок было установлено, что у самок, инвазированных C. adiposa, наблюдались качественные и количественные изменения белкового спектра крови (табл. 2). Как видно из табл. 2, различия между свободными от заражения и зараженными самками прежде всего проявлялись в количестве белковых фракций, подвижных в направлении катода. У свободных от заражения самок в положительном электрическом поле обнаруживали подвижность 4 белковые фракции (IV—VII), а у зараженных особей — только 3 (IV—VI).[1] Фракция VII у самок, инвазированных C. adiposa, отсутствовала.

---

[1] Поскольку белковые фракции крови озерной живородки не оказалось возможным идентифицировать с белками сыворотки крови человека, они обозначены нами в направлении от катода к аноду римскими цифрами от I до VII.

Таблица 2

Процентное соотношение белковых фракций крови самок *Viviparus contectus*, свободных от инвазии и инвазированных Cercaria adiposa

Белковые фракции	Свободные от инвазии моллюски					Моллюски, инвазированные личинками трематод				
	min—max	*M*	*m*	σ	*C*	min—max	*M*	*m*	σ	*C*
I	21.12—33.31	26.01	1.34	4.34	16.69	26.67—43.53	34.84	2.85	5.69	16.32
II	14.94—18.94	16.78	0.46	1.46	8.58	15.00—21.84	17.65	0.89	2.25	12.75
III	7.20—13.24	10.49	0.59	1.87	17.82	9.73—16.19	12.46	0.07	2.02	17.00
IV	11.29—21.50	18.12	0.86	2.70	14.91	16.81—27.00	24.87	2.09	5.53	22.23
V	9.79—22.40	18.86	1.05	3.28	17.39	6.00—14.29	7.70	1.28	3.39	44.03
VI	8.06—13.24	10.51	0.37	1.18	11.23	2.31—5.33	3.56	0.34	0.89	0.25
VII	0.60—4.61	1.81	0.50	1.59	87.85	—	—	—	—	—

Кроме того, у свободных от заражения моллюсков фракции I—III, вместе взятые, в очень малой степени преобладали над остальными фракциями (53.28% против 46.72). У инвазированных же животных фракции I—III обнаруживали значительный перевес над фракциями IV—VI (64.95% против 35.05).

При сравнении процентного содержания каждой из белковых фракций крови свободных от заражения и зараженных C. adiposa самок озерной живородки оказалось, что для всех фракций без исключения были обнаружены статистически достоверные различия (табл. 3).

Таблица 3

Результаты биометрического сравнения процентного содержания белковых фракций крови самок *Viviparus contectus*, свободных от инвазии и инвазированных Cercaria adiposa

Статистические показатели	Белковые фракции					
	I	II	III	IV	V	VI
Коэффициент Стьюдента	8.1	2.8	9.4	3.2	6.7	43.7
Степень достоверности . .	99.9	96.9	99.9	98.1	99.9	99.9

В крови моллюсков, инвазированных C. adiposa, значительно возрастала концентрация белков фракций I, III и IV, в то время как содержание белков фракций V и VI заметно снижалось, а белки фракции VII у зараженных особей выявить вообще не удалось.

У самцов озерной живородки метацеркарии *N. echinatoides* локализовались в предстательной железе. Даже при визуальном наблюдении она выглядела существенно измененной: была несколько гипертрофирована, характеризовалась плотной консистенцией и неровной бугорчатой поверхностью.

Электрофоретическое исследование крови самцов озерной живородки, зараженных личинками *N. echinatoides*, показало наличие значительных нарушений в ее белковом спектре. Процентное соотношение белковых фракций крови у зараженных паразитами животных было резко отличным от такового у незараженных (табл. 4). При этом заметно возросло содержание белков фракций III, IV и VI. Содержание белков фракций II и V не претерпело существенных изменений, что видно из результатов биометрического сравнения процентного содержания белковых фракций крови самцов озерной живородки, свободных от инвазии и инвазированных личинками *N. echinatoides* (табл. 5).

У самцов, зараженных личинками *N. echinatoides*, наблюдалось увеличение общего количества белков, подвижных в отрицательном

Таблица 4

Процентное соотношение белковых фракций крови самцов *Viviparus contectus*, свободных от инвазии и инвазированных метацеркариями *Neoacanthoparyphium echinatoides*

Белковые фракции	Свободные от инвазии моллюски					Моллюски, инвазированные личинками трематод				
	min—max	*M*	*m*	σ	*C*	min—max	*M*	*m*	σ	*C*
I	39.40—42.50	32.89	3.04	8.05	25.08	21.95—43.00	40.68	0.31	1.00	2.46
II	21.64—29.59	26.83	1.26	3.37	12.55	22.64—31.82	26.06	0.80	2.53	9.33
III	7.39—10.31	9.93	0.98	2.61	26.21	7.00—15.15	8.76	0.28	0.87	9.00
IV	11.22—17.64	20.07	1.32	3.51	17.04	15.00—24.39	16.32	0.59	1.84	12.00
V	5.80—8.25	6.99	1.01	2.69	38.64	4.00—12.80	6.54	0.30	0.95	14.53
VI	0.81—3.00	3.43	0.72	1.92	55.97	1.05—4.89	1.95	0.28	0.88	45.13

Таблица 5

Результаты биометрического сравнения процентного содержания белковых фракций крови самцов *Viviparus contectus*, свободных от инвазии и инвазированных личинками *Neoacanthoparyphium echinatoides*

Статистические показатели	Белковые фракции					
	I	II	III	IV	V	VI
Коэффициент Стьюдента	2.6	0.6	2.8	2.8	0.4	4.1
Степень достоверности . .	95.9	43.0	96.9	96.9	29.7	99.4

электрическом поле, и соответственное уменьшение количества белков, подвижных в положительном электрическом поле. У свободных от инвазии моллюсков белки фракций I—III в меньшей мере преобладали над фракциями IV—VI (69.65% против 30.35), чем у животных, зараженных личинками *N. echinatoides* (75.50% против 24.50).

Результаты последнего исследования особенно интересны тем, что они показывают, насколько существенные сдвиги в метаболических процессах могут иметь место у моллюсков при инвазии их личиночными формами трематод. У самцов озерной живородки паразиты заселяли предстательную железу, т. е. орган, который не играет столь существенной роли в биосинтезе белков как «печень». Тем не менее в белковой картине крови и в этом случае наблюдались довольно ощутимые нарушения.

Интересно подчеркнуть также, что у моллюсков, зараженных личинками трематод, независимо от локализации последних, белковый спектр крови претерпевал изменения в одном и том же направлении: концентрация белков, подвижных в направлении анода, возрастала за счет уменьшения содержания белков, подвижных в направлении катода.

Визуально кровь зараженных личинками трематод моллюсков не отличалась от таковой свободных от инвазии животных. Не было также обнаружено различий и в подвижности белковых фракций крови, обусловленных инвазией моллюсков личиночными формами трематод.

Литература

Здун В. І. 1961. Личинки трематод в прісноводних молюсках України,. Київ : 3—141.

Илков А. и Николов Т. 1959. Электрофорез растворимых белков в агаровом геле. Вопр. мед. химии, 5 : 388.

Сухомлинов Б. Ф., Едкина В. Д. и Яковенко А. Н. 1962. Электрофоретическая характеристика белков сыворотки крови и печени при воздействии

ионизирующей радиации. В сб.: Биологическое действие радиации. Изд. Львовск. гос. унив. : 8—25.
Kohn I. 1957. A cellulose acetate supporting medium for ione electrophoresis. Clinica Chimia Acta, 2 : 293—303.
Kohn I. 1958. Small scale membrane filter electrophoresis and immuno-electrophoresis, Cl. Chim. Acta, 3 : 1—450.
Targett G. A. T. 1963. Electrophoresis of blood from intermediate and non-intermediate snail host of Schistosomes. Exp. Parasitol., 14 : 143—152.
Wright C. A. and Ross G. C. 1959. Electrophoresis of snail blood. Transact. Roy. Soc. Trop. Med. Hyg., 53 : 1—308.

ON VARIATIONS IN THE BLOOD ALBUMINOUS SPECTRUM OF VIVIPARUS CONTECTUS (MILLET, 1813) (GASTROPODA, PROSOBRANCHIA) CAUSED BY INVASION WITH LARVAL FORMS OF TREMATODES

A. P. Stadnychenko

SUMMARY

Variations in the blood albuminous spectrum in males and females of *Viviparus contectus* (Millet, 1813) were studied by the method of electrophoresis on agar gel. Males and females were invaded with metacercaria *Neoacanthoparyphium echinatoides* Odening, 1962 (Cercaria echinatoides Filippi, 1854) and Cercaria adiposa Lutta, 1934, respectively. In mollusks invaded with larvae of trematodes the concentration of albumins mobile in the negative electric field increased with decreasing content of albumins mobile in the positive electric field.